

新型冷陰極電界放出形クライオ電子顕微鏡 "CRYO ARM™ 300 II"の紹介

2021.02.05

日本電子株式会社

EMアプリケーション部 細木 直樹

概要

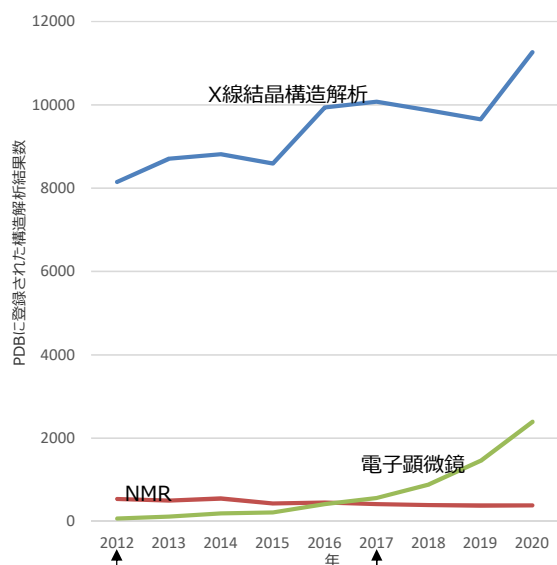
- はじめに
- 主なアプリケーションについて
- CRYO ARM™300 IIの特徴
- まとめ



はじめに



構造生物学におけるクライオ電子顕微鏡の位置づけ



近年、電子顕微鏡を用いた蛋白質の構造解析結果が飛躍的に増加している。

単粒子解析法に代表されるクライオTEMの利用者もそれに併せて飛躍的に増加しており、電子顕微鏡は専門家の為の装置ではなくデータ取得用の一般的なツールとなってきた。

直接露光カメラの開発

ノーベル化学賞受賞

日本電子の市場参入



製品情報 アプリケーションノート サービス&ソリューション 会社情報 採用

トップ > ニュース > ニュースリリース > 電界放出形クライオ電子顕微鏡JEM-Z300FSCを販売開始

電界放出形クライオ電子顕微鏡JEM-Z300FSCを販売開始

2017/06/26

日本電子株式会社（代表取締役社長 東原 雅行）は、新型電界放出形クライオ電子顕微鏡JEM-Z300FSC（CRYO ARM™ 300）を開発し、2017年6月より販売を開始しました。

2019年5月21日
理化学研究所

← 前の記事 ↑ 一覧へ戻る → 次の記事

タンパク質やその複合体の高分解能・高精度解析に成功 －国産クライオ電子顕微鏡の巻き返しと創薬研究への本格的応用に貢献－

理化学研究所（理研）放射光科学センター生体機構研究グループの米倉功治グループディレクター、浜口祐研究員、内藤久志前任研究員、イメージング開発チームの眞木さおり研究員らの研究チーム[※]は、新型のクライオ電子顕微鏡^[1]システムを構築し、タンパク質やその複合体を高い空間分解能^[2]で高精度な構造解析に成功しました。

本研究成果は、海外の一社にほぼ独占されているクライオ電子顕微鏡に対する国産機の巻き返しにつながるとともに、クライオ電子顕微鏡解析の創薬研究への本格的な応用を加速すると期待できます。



Solutions for Innovation JEOL

日本電子の市場参入



CRYO ARM™ 300は多くのユーザーの皆様からのフィードバックにより育てられてきました。

Solutions for Innovation JEOL

The next stage of CRYO ARM™ 300

CRYO ARM™ 300 II

リリース：2021/01/22

分野：構造生物学、創薬等

主なアプリケーション：単粒子解析、電子線トモグラフィ、マイクロED

アピールポイント：新型CFEGの高い安定性

新型オメガフィルターと自動調整機能による高い安定性

高精度ステージの位置再現性



7

Solutions for Innovation JEOL

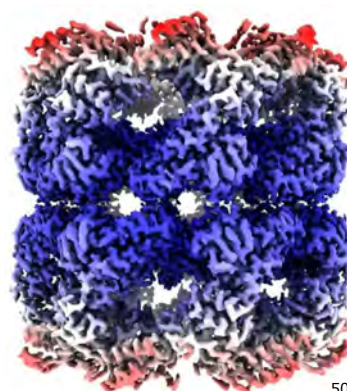
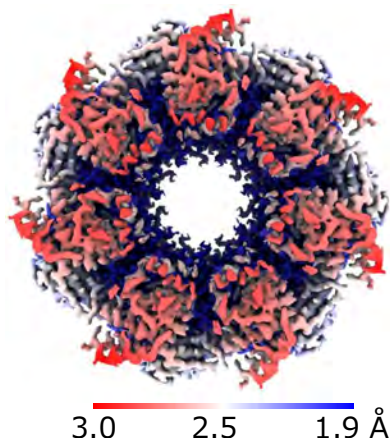
主なアプリケーションについて



CRYO ARM™300で得られた結果 #1 ～高分解能データの取得～

GroEL

僅か504枚の電子顕微鏡写真で達成した、分解能1.98ÅのGroELの電子密度マップ。先行研究では、1,883枚の電子顕微鏡写真から分解能3.1Åの電子密度マップが得られていました。(as of Oct. 26, 2020 at EMDB)



504枚158,485粒子から再構成

データ提供 : Dr. Junso Fujita at Osaka University

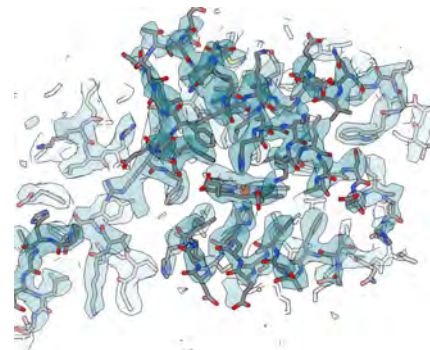
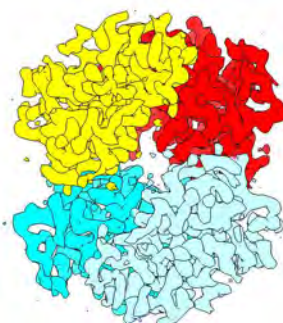
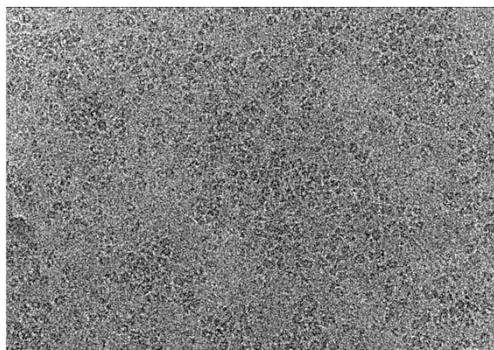
Solutions for Innovation JEOL

9

CRYO ARM™300で得られた結果 #2 ～ハイスループットの実現～

Hemoglobin

1時間当たり850枚の画像を取得した、ヒトのヘモグロビン(64kDa)の分解能3.4Åの構造解析結果。電子顕微鏡写真(左)、電子密度マップ(中央)、及び電子密度マップへの原子モデルのフィッティング(右)。



9000枚 約10,000粒子から再構成

試料提供 : Dr. Miki Kinoshita at Osaka University

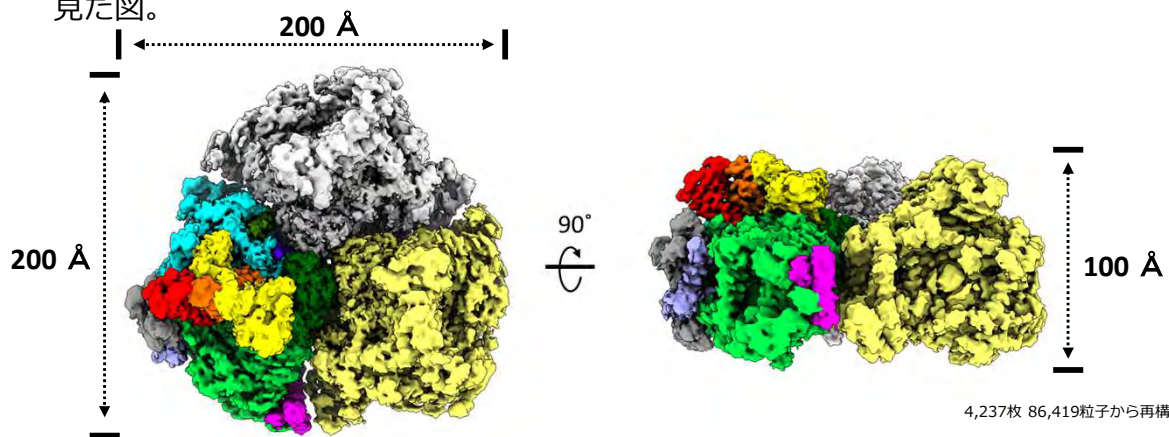
Solutions for Innovation JEOL

10

CRYO ARM™300で得られた結果 #3 ～膜蛋白質の構造解析～

PS I

Acaryochloris marina から精製された光化学系 I の電子密度マップ（分解能2.5Å）。左図はストロマ側より膜に垂直に見た図。右図はそれを90度回転させ膜の断面方向より見た図。



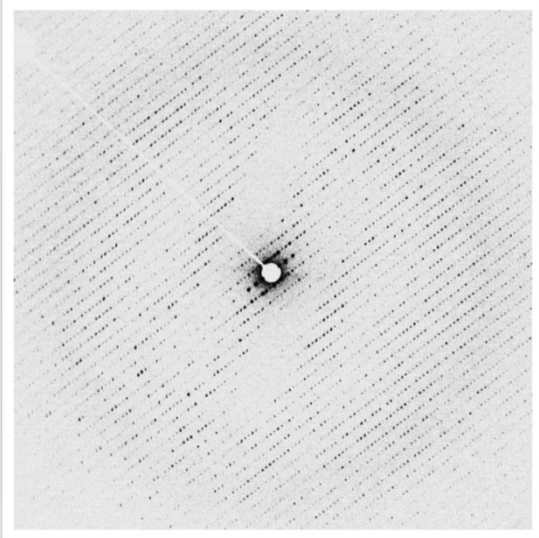
データ提供 : Dr. Koji Yonekura at RIKEN, Spring -8 Center.

Solutions for Innovation JEOL

11

CRYO ARM™300で得られた結果 # 4 ～回折パターンの取得～

Catalase -Diffraction pattern with Omega filter (eEFD)-



オメガフィルターを使って得られた、カタラーゼ結晶の電子回折パターン。対角線上に沿って2.1Åまで、明瞭な回折スポットを見ることができます。

データ提供 : Dr. Koji Yonekura at RIKEN, Spring-8 Center.

Solutions for Innovation JEOL

12

CRYO ARM™300で得られた結果 #5 ～クライオ電子線トモグラフィの取得～

Exosome



Scale bar=200nm



ホールフリー位相板を用いて撮影された、単離エクソソームの断面像。- 60°から+ 60°まで、2°ずつの連続傾斜画像から三次元再構成像（トモグラム）が作られています。

試料提供：Dr. Naoomi Tominaga at National Cancer Center Research Institute and The University of Tokyo.

13

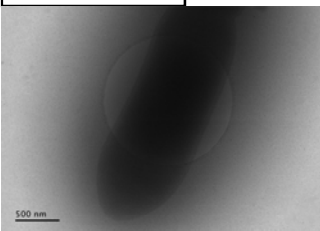
Solutions for Innovation JEOL

CRYO ARM™300で得られた結果 #6 ～厚い試料のクライオ電子線トモグラフィの取得～

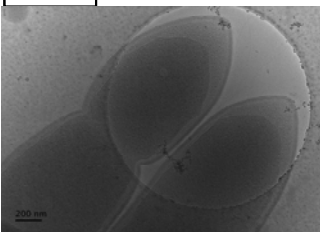
Atribacter laminatus

地下で発見！ゲノムが膜で包まれたバクテリアー新しい門に分類される常識外れの細菌の培養に成功ー

Conventional

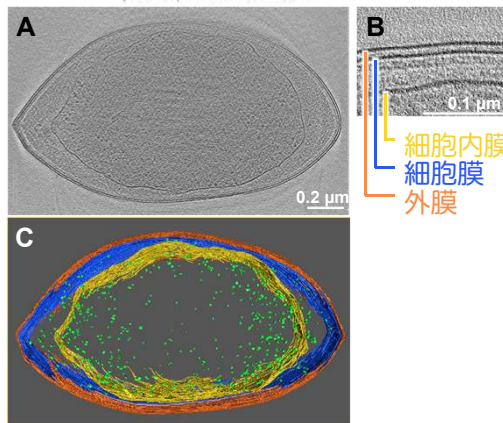


HFPP



概要

国立研究開発法人 産業技術総合研究所【理事長 石村 和彦】（以下「産総研」という）地圏資源環境研究部門【研究部門長 光畑 祐司】地圏微生物研究グループ 片山 幸樹 主任研究員、吉岡 秀佳 研究グループ長、生物プロセス研究部門【研究部門長 鈴木 肇】生物資源情報基盤研究グループ Nobu Masaru Konishi（延 博）研究員、伊田 祐之 研究員、孟 憲榮 テクニカルスタッフ、藤形 洋一 招聘研究員、玉木 秀幸 研究グループ長は、日本電子株式会社【代表取締役社長兼COO 大井 栄】EM事業ユニット 榎本 直樹 主事、株式会社マリン・ワーク・ジャパン【代表取締役社長 杉山 和弘】海洋地球科学部 楠松 勝之 専門員と共同で、天然ガス田などの地下環境でのメタン生成活動に重要な役割を担う細菌（バクテリア）、RT761株の培養に成功した。



この菌株は一般的な細菌とは細胞の構造が根本的に異なり遺伝情報を持つゲノムDNAが細胞内で「膜」に包まれていた。また、RT761株が最も上位の分類階級にあたる「門」レベルで新しい細菌種であることを証明し、この菌株を代表とした新しい門を *Atribacterota*（アトリバクテロータ）、この菌株を新種 *Atribacter laminatus*（アトリバクテラ ラミナタス）とする新学名を提案した。

生物は「原核生物」（例：大腸菌や乳酸菌などの細菌）と「真核生物」（例：ヒト、動植物、カビなど）の2つに大別される。両者の決定的な違いの1つはゲノムDNAが細胞内で膜（核膜）に包まれているかどうかであり、原核生物で核膜を持ったものは発見されていなかった。しかし、今回、培養した *A. laminatus* RT761株は、本来、原核生物が持つはずのない「ゲノムDNAを含む細胞内膜」を持っていた。原核生物の細胞的な特徴を改めて見直し、その再定義を迫る可能性を示す。また、この菌株を代表とする新たな門 *Atribacterota*は世界中のメタンが蓄積する地下環境（天然ガス田やメタンハイドレートなど）に広く生息する細菌グループの1つであることから、地下環境で見られる活発なメタン生成活動に果たす地下微生物の役割や役割の解明への貢献が期待される。

なお、この成果は2020年12月14日（英国時間）、Nature Communications誌に掲載される。

14

Solutions for Innovation JEOL

CRYO ARM™300 IIの特徴

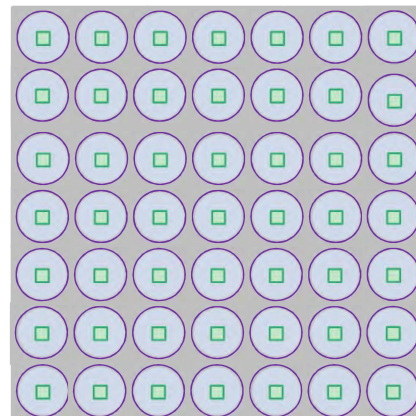
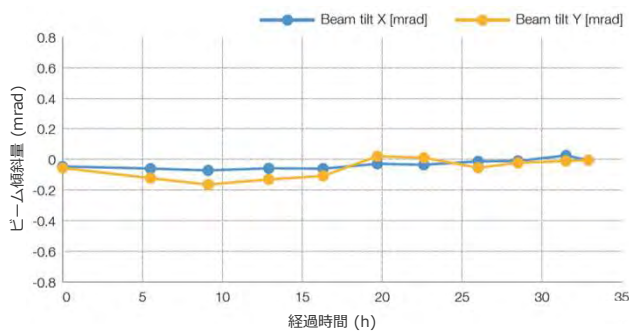


CRYO ARM™300 IIの特徴 #1 ～効率的で生産性が向上するハイスループットシステム～

Quick Collection

ステージ移動を伴う多点撮影は移動やドリフトの待ち時間の為、時間が掛かります。そこでCRYO ARM™ 300 II ではビームシフトとイメージシフトによる多点撮影を可能にしました。このCRYO ARM™ 300 IIの制御されたビームシフトは、極めてコマ収差が小さく、撮影画像に影響を与えません。このビームシフト機能により、像質を落とすことなくより短時間で多点のデータを取得できます。

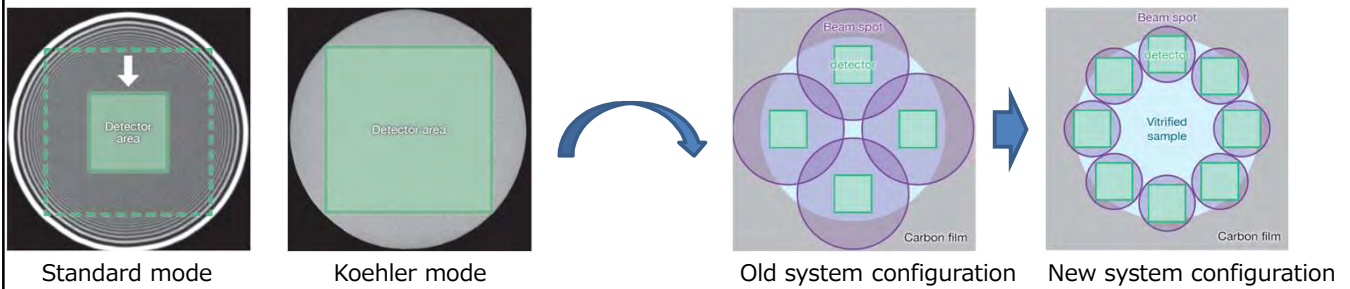
Beam tilt stability



CRYO ARM™300 IIの特徴 #1 ～効率的で生産性が向上するハイスループットシステム～

Zero Fringe System

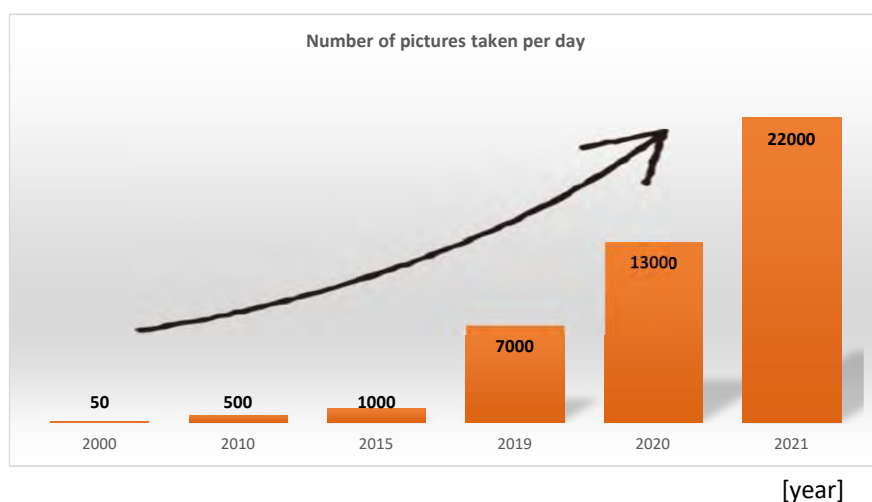
CRYO ARM™ 300 II には、標準的なビーム照射モードの他にケーラー照射モード搭載しています。
このケーラー照射では照射レンズ絞りのフレネル干渉縞が現れないので、照射範囲を検出器のサイズまで小さくできます。
この照射系を用いることで、撮影時に試料がダメージを受けるエリアを減らし、より多くの画像データ取得ができます。



17

Solutions for Innovation JEOL

CRYO ARM™300 IIの特徴 #1 ～効率的で生産性が向上するハイスループットシステム～



1時間当たり500 ～ 900 枚の画像取得が可能に

18

Solutions for Innovation JEOL

CRYO ARM™300 IIの特徴 #2 ～ユーザーの状況に合わせた使い方ができる柔軟な操作性～

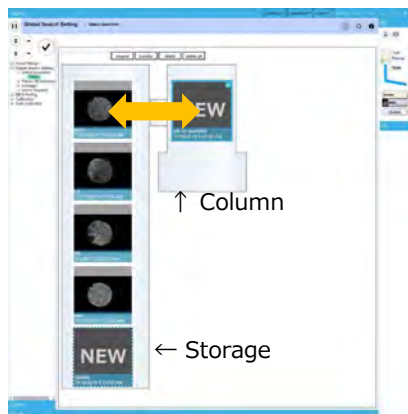
精度の高いステージ駆動

CRYO ARM™ 300 II は、卓越したステージの位置再現性を持っています。

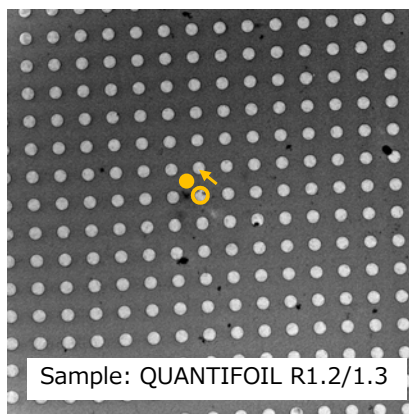
試料交換時に、意図しない試料の回転や大きな位置ずれは生じません。

鏡筒とストレージの間を行き来させても、「グローバルマップ」と呼ぶ試料全景の画像を適用できます。

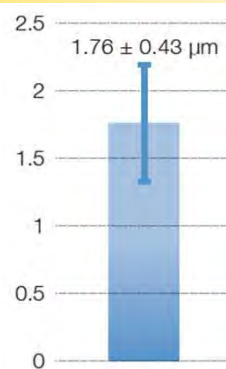
再度試料の低倍像を撮影すること無く、スクリーニング時の画像を使って撮影の設定ができるので、試料ダメージを最低限に抑えられます。



19



Measured value of displacement

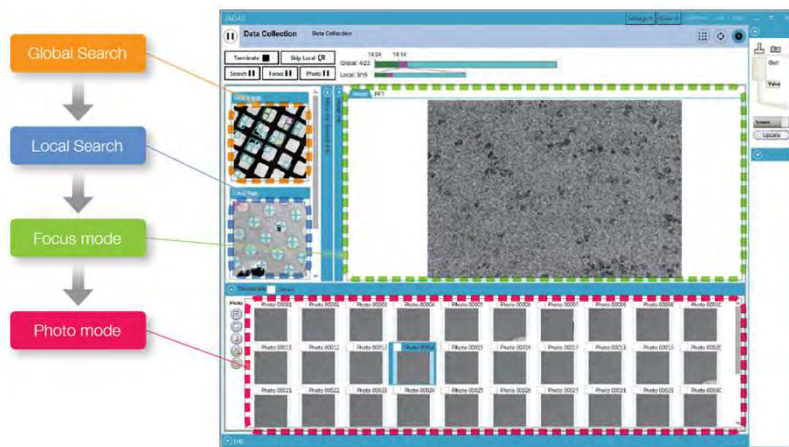


Solutions for Innovation JEOL

CRYO ARM™300 IIの特徴 #2 ～ユーザーの状況に合わせた使い方ができる柔軟な操作性～

JADAS 4

CRYO ARM™ 300 IIでは新しい「JADAS」ソフトウェアにより、初心者ユーザーでも簡単な操作で画像データを取得できます。JADASは対話形式で取得パラメーターを選ぶソフトウェアで、ユーザーがフローに沿って操作すると、自動的に画像データの取得が始まります。



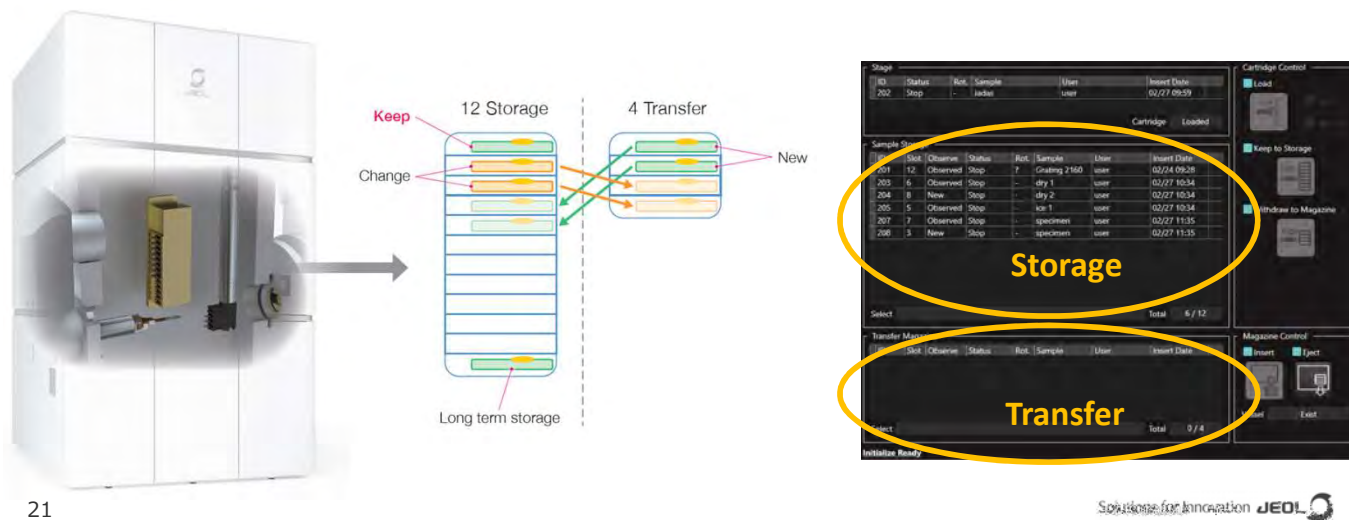
20

Solutions for Innovation JEOL

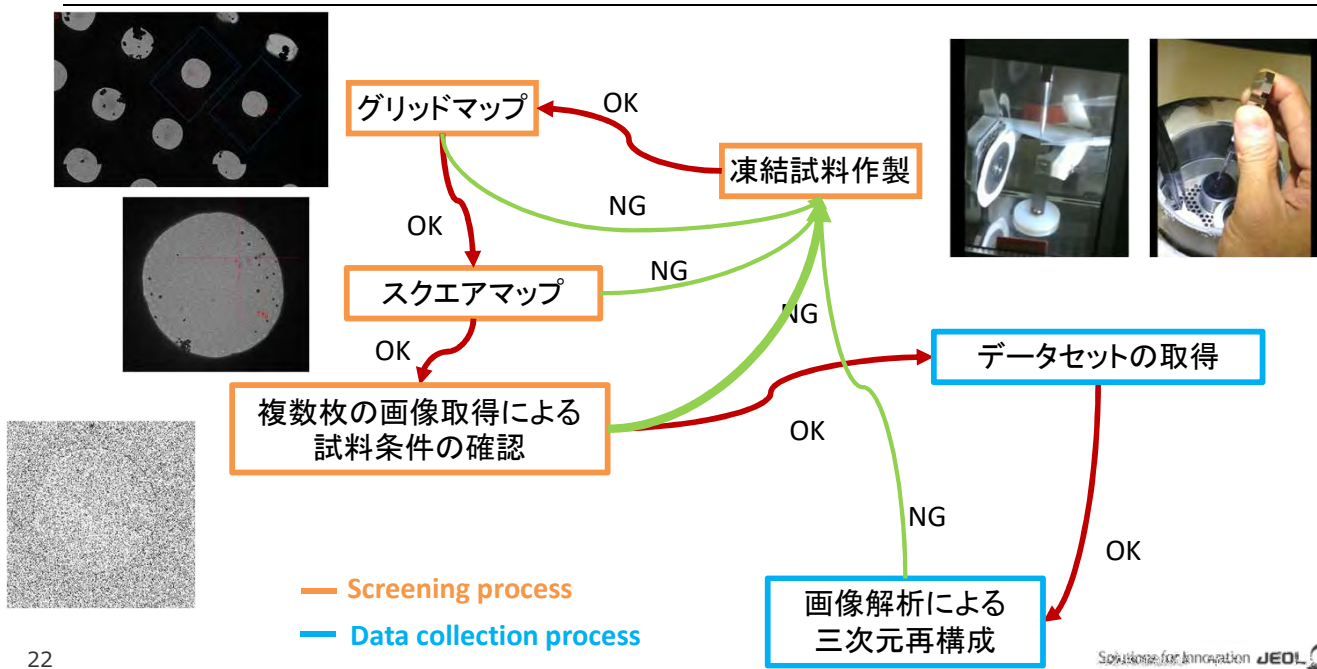
CRYO ARM™300 IIの特徴 #2 ～ユーザーの状況に合わせた使い方ができる柔軟な操作性～

CRYOSPECPORTER -アイスコンタミネーションの無い試料保管と取り出し-

CRYO ARM™ 300 II では、試料を霜の付かないクリーンな状態で数週間の保管ができます。
また試料は、液体窒素温度の窒素ガス雰囲気下で、搬送マガジンにより1個から交換や取り出しができます。

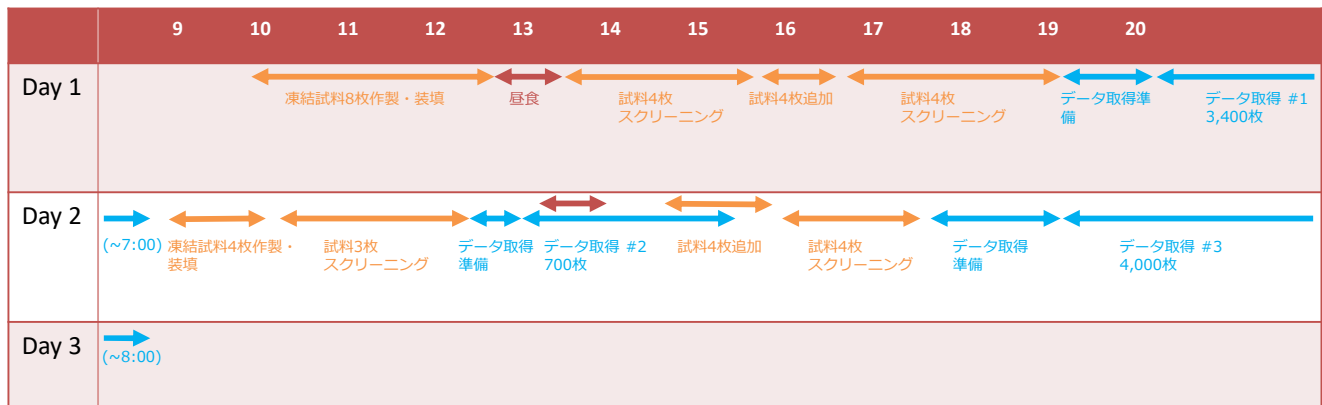


単粒子解析におけるワークフロー



実証試験 (CiCLE事業)

2日間で20グリッドをスクリーニングし、3枚のグリッドから、3データセット、約8000枚の画像を収集した(2020年8月21日、Webにて成果報告)。



— Screening process

— Data collection process

1台の装置で複数試料のスクリーニングからデータ取得までを行い、2 Å前後の良好な結果が得られました。

Solutions for Innovation JEOL

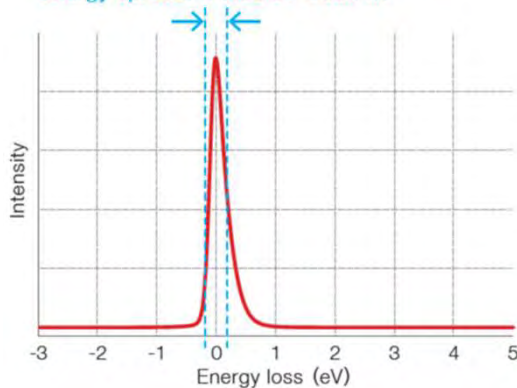
CRYO ARM™300 IIの特徴 #3 ~いつでも良好な画像を得られる高い安定性~

新型冷陰極電界放出形電子銃 (New CFEG)

CRYO ARM™ 300 II は、新型の冷陰極電界放出形電子銃 (CFEG) を搭載しています。この新型電子銃は、エネルギー幅が小さく、より安定したプローブ電流の電子ビームを作り出すことができます。したがって、ユーザーはいつでも高品質の画像を得ることができます。

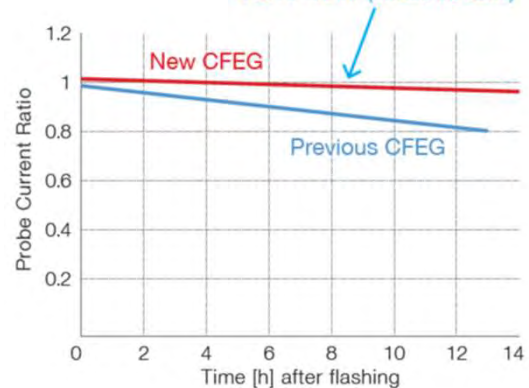
<1/2 energy spread compared to Schottky

Energy spread: < 0.35 eV @300 kV



Stabilized probe current for extended periods of time

<10% @8 hr (Measured value)

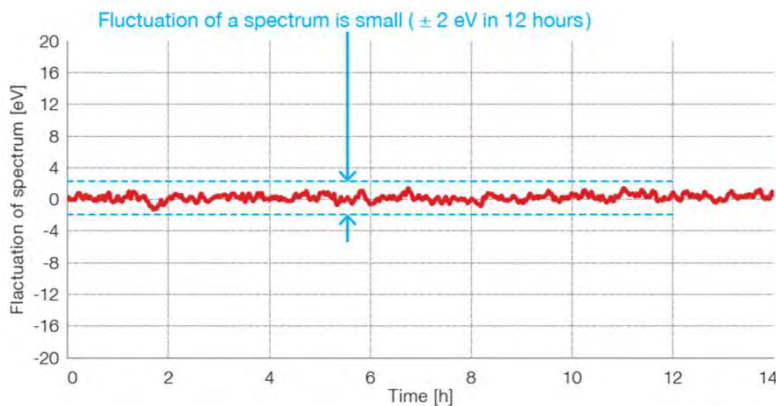


CRYO ARM™300 IIの特徴 #3 ～いつでも良好な画像を得られる高い安定性～

新型オメガフィルター

CRYO ARM™ 300 II は、改良されたインカラム形オメガフィルターを搭載しています。この新型オメガフィルターには自動調整機能があり、常に高い安定性で最良の性能を発揮します。

Stability of new Omega filter



25

Solutions for Innovation JEOL

CRYO ARM™300 IIのまとめ

- Quick collectionおよびzero fringe systemによるハイスループットなデータ取得
- 精度の高いステージ駆動、JADAS 4、CRYOSPECPORTERによるクリーンな試料保管による柔軟な運用
- 新型Cold FEGおよび新型オメガフィルターによる高い安定性

→顕微鏡に不慣れな方であっても、簡単な操作で質の高いデータ取得を行う事が出来る次世代のクライオ電子顕微鏡です。



26

Solutions for Innovation JEOL

ご清聴ありがとうございました。
Thank you for your attention.